

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN JALOH (*Salix Tetrasperma Roxb*) TERHADAP PERSENTASE PARASITEMIA PADA MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINFEKSI *Plasmodium berghei*

Nuzul Asmilia¹, Sugito¹, Erdiansyah Rahmi², dan Niko Febrianto¹

¹Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: nuzulasmilia@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun jaloj pada berbagai dosis terhadap persentase parasitemia pada mencit (*Mus musculus*) yang diinokulasi *Plasmodium berghei*. Dalam penelitian ini digunakan 12 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) galur Balb/C dengan bobot badan rata-rata 30,2 gram yang berumur 2 bulan. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan tiga ulangan. Keempat kelompok perlakuan adalah kelompok kontrol (K0) adalah mencit yang terinfeksi *P. berghei* tanpa diberi ekstrak etanol daun jaloj, kelompok perlakuan (K1) mencit yang terinfeksi *P. berghei* diberi ekstrak etanol daun jaloj dosis 50 mg/kg BB. Kelompok perlakuan (K2) mencit yang terinfeksi *P. berghei* diberi ekstrak etanol daun jaloj dosis 100 mg/kg BB dan kelompok perlakuan (K3) mencit yang terinfeksi *P. berghei* diberi ekstrak etanol daun jaloj dosis 150 mg/kg BB. Pengamatan persentase parasitemia dilakukan dengan menggunakan mikroskop pada sediaan darah apus tipis yang diwarnai Giemsa. Data persentase parasitemia dianalisis dengan ANAVA pola satu arah. Rata-rata (\pm SD) persentase parasitemia selama tiga hari pada empat perlakuan (K0, K1, K2, dan K3) secara berurutan pada hari pertama adalah $24,87 \pm 1,86$; $24,33 \pm 1,53$; $24,20 \pm 1,06$; dan $24,93 \pm 1,01$. Pada hari kedua adalah $22,67 \pm 2,52$; $23,00 \pm 1,00$; $22,80 \pm 1,20$; dan $24,13 \pm 2,01$. Pada hari ketiga adalah $24,77 \pm 1,66$; $22,97 \pm 3,76$; $21,13 \pm 1,90$; dan $24,27 \pm 1,42$. Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak etanol daun jaloj tidak mempengaruhi persentase parasitemia pada mencit (*Mus musculus*) yang diinokulasi *Plasmodium berghei*.

Kata kunci: ekstrak daun jaloj, *Plasmodium berghei*

ABSTRACT

This study aimed to verify the effect of ethanol extract of jaloj leaves at various doses on parasitemia percentage of in mice (*Mus musculus*), which inoculated *Plasmodium berghei*. This study used 12 male mice (*Mus musculus*) strains Balb / C with average body weight of 30.2 grams of 2-month-old. This research using Completely Randomized Design (CRD) with four treatments and three replications. All the mice were infected with *Plasmodium berghei* prior to treatment on three days post infected the mice in group 2,3 and 4 were given with extract ethanol jaloj leaves at dose 50, 100, 150 mg/kgbw inspectively. The mice in group 1 (K0) were not given anything and consistent as control. Observations parasitemia percentage using microscopy on preparations stained thin blood smear Giemsa. The parasitemia percentage data were analyzed using one way ANOVA. On the average (\pm SD) percentage of parasitemia during the three days in four treatments (K0, K1, K2, and K3) on the first day were 24.87 ± 1.86 ; 24.33 ± 1.53 ; 24.20 ± 1.06 ; and 24.93 ± 1.01 . On the second day were 22.67 ± 2.52 ; 23.00 ± 1.00 ; 22.80 ± 1.20 ; and 24.13 ± 2.01 ; and on the third day were 24.77 ± 1.66 ; 22.97 ± 3.76 ; 21.13 ± 1.90 ; and 24.27 ± 1.42 . Statistical analysis showed that ethanol extract of the jaloj leaves for KO, KI, KII, and KIV respectively treatment did not affect the percentage of parasitemia in mice (*Mus musculus*) inoculated *Plasmodium berghei*.

Keywords: jaloj leaves extract, *Plasmodium berghei*

PENDAHULUAN

Indonesia kaya akan sumber bahan obat alam dan obat tradisional yang telah digunakan oleh sebagian besar masyarakat Indonesia secara turun temurun. Keuntungan obat tradisional yang dirasakan langsung oleh masyarakat adalah kemudahan untuk memperolehnya dan bahan bakunya dapat ditanam di pekarangan sendiri, murah, dan dapat diramu sendiri di

rumah (Anonimus, 1993).

Saat ini penelitian terhadap tumbuhan obat tradisional telah mendapat perhatian cukup besar. Penelitian kearah itu semakin meningkat disebabkan kandungan zat-zat aktif dalam tumbuhan dapat memberikan efek fisiologi tertentu terhadap berbagai jenis penyakit, sehingga mendorong para ahli untuk meneliti tumbuhan obat tersebut secara mendalam (Robinson, 1991).

Seiring dengan berkembangnya penggunaan tanaman obat dalam kesehatan dengan semboyan *back to nature*, keingintahuan masyarakat terhadap khasiat dan manfaat tanaman obatpun semakin berkembang. Saat ini masyarakat mulai menyadari bahwa pemakaian bahan kimia sering menimbulkan efek samping, sehingga lebih memilih menggunakan bahan alami yang berasal dari tumbuhan (Anomimus, 2008).

Di daerah Aceh, khususnya di Kabupaten Aceh Besar telah lama diketahui ada sejenis tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional, dalam bahasa Aceh disebut jaloh (*bak sijalōh*). Dari hasil identifikasi, tanaman ini termasuk famili Salicaceae, *Salix tetrasperma* Roxb. Tanaman ini secara empirik tradisional biasa digunakan masyarakat untuk mengobati orang yang menderita demam menggigil (Sugito *et al.*, 2008). Dari bukti-bukti empiris pada beberapa penderita demam menggigil karena malaria menunjukkan bahwa pemberian perasan daun jaloh dapat mengurangi gejala demam ataupun menghilangkan gejala demam intermiten setelah beberapa hari mengkonsumsi air perasan jaloh tersebut. Hilangnya gejala demam dan tidak munculnya kembali gejala pada penderita malaria kemungkinan pada bagian tanaman jaloh ini terdapat senyawa bioaktif yang dapat menghambat atau membunuh plasmodium ataupun sebagai antipiretik yang hanya bekerja secara simptomatis (Asmilia *et al.*, 2008).

Malaria adalah penyakit yang menyerang manusia, burung, kera, primata, hewan melata dan hewan pengerat, yang disebabkan oleh infeksi protozoa dari genus plasmodium dan mudah dikenali dari gejala meriang (panas dingin menggigil) serta demam berkepanjangan (Harijanto, 2000).

Provinsi Aceh merupakan salah satu daerah dengan kasus malaria yang cukup tinggi. Pasca gempa bumi dan gelombang Tsunami pada tanggal 26 Desember 2004 yang lalu, telah menyebabkan terjadinya peningkatan angka kesakitan dan kematian, yang salah satunya disebabkan oleh penyakit malaria. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi kondisi tersebut antara lain, semakin banyak area tempat berkembang biak vektor malaria, timbulnya resistensi malaria penderita, dan pemberian dosis obat yang tidak tepat sehingga pemberantasan penyakit malaria semakin sulit (Syafuruddin, 2006).

Plasmodium berghei adalah hemoprotozoa yang menyebabkan penyakit malaria pada rodensia, terutama rodensia kecil. Hal ini diperkuat dengan adanya analisa molekuler yang menemukan persamaan antara *P. berghei* penyebab malaria pada rodent dengan *P. falciparum* penyebab malaria pada manusia (Tuti *et al.*, 1991; Phillips, 2001; Schuster, 2002). Dasar biologi plasmodium yang menyerang rodensia sama dengan plasmodium yang menyerang manusia, seperti siklus hidup maupun antigen target sama. Sehingga penelitian berbagai aspek parasitologi, imunologi morfologinya, genetik, dan pengaturan genomnya, fungsi dan struktur pada kandidat vaksin, dan pengembangan vaksin malaria banyak menggunakan parasit rodensia dan mencit sebagai hospesnya. Selain itu penelitian *in vivo* pada interaksi parasit dengan hospesnya dapat dilakukan pada parasit rodensia. Dengan model ini kemungkinan dapat dilakukan manipulasi pada hospes sehingga dapat dipelajari perubahan imunologis yang terjadi selama infeksi malaria (Harijanto, 2000).

Sampai sejauh ini belum pernah dilaporkan tentang efektivitas pemberian ekstrak etanol daun jaloh terhadap berbagai jenis plasmodium, oleh sebab itu pada penelitian ini ingin mengetahui apakah pemberian ekstrak etanol daun jaloh berpengaruh terhadap persentase parasitemia pada mencit (*Mus musculus*) yang diinokulasi *Plasmodium berghei*.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi ilmiah dalam rangka mengkaji penggunaan bahan aktif daun jaloh sebagai antimalaria serta menjadi landasan ilmiah untuk penggunaan ekstrak daun jaloh sebagai kandidat fitofarmaka obat antimalaria dimasa mendatang.

MATERI DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Daun jaloh yang digunakan adalah daun yang diambil dari tanaman jaloh yang tumbuh di kawasan Darussalam, Propinsi Aceh pada bulan Juli 2008. Identifikasi tanaman dilakukan di Herbarium MIPA Biologi Unsyiah, sebagai *Salix tetrasperma* Roxb.

Pemeliharaan dan perlakuan pada mencit dilakukan dikandang hewan percobaan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Kandang yang digunakan terbuat dari bak plastik dan berukuran 50 x 30 x 25 cm.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November-Desember 2008 di Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala.

Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan 12 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) galur *Balb/c* dengan bobot badan rata-rata 30,2 gram yang berumur 2 bulan, belum pernah dibuat perlakuan dan dalam keadaan sehat.

Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan adalah blender, pengayak, neraca analitik, *rotary evaporator*, *waterbath*, lumpang dan alunya, pompa vakum, tabung steril, mikroskop binokuler, gelas objek, spuit insulin, gunting, pipet tetes, sonde, kertas saring, kapas dan kandang mencit.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari daun jalloh, etanol 70%, karboksil metil selulosa (CMC) 1%, isolat *Plasmodium berghei* galur ANKA, Giemsa, larutan PBS (*phosphate buffer saline*), NaCl fisiologis, *aquadest steril*.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan, masing-masing perlakuan terdiri dari tiga ulangan. Mencit yang akan diberikan perlakuan terlebih dahulu dilakukan inokulasi *Plasmodium berghei*, dengan melihat preparat hapus darah setiap hari sampai persentase parasitemianya mencapai 20%.

Selanjutnya mencit-mencit yang sudah terinfeksi tersebut dibagi secara acak dalam empat kelompok perlakuan (K0; K1; K2, dan K3). Keempat kelompok perlakuan, yaitu : 1). Kelompok kontrol (K0) adalah mencit yang terinfeksi *P. berghei* tanpa diberi ekstrak etanol daun jalloh. 2). Kelompok perlakuan (K1) adalah mencit yang terinfeksi *P. berghei* yang diberi ekstrak etanol daun jalloh dengan dosis 50 mg/kg BB. 3). Kelompok perlakuan (K2) adalah mencit yang terinfeksi *P. berghei* yang diberi ekstrak etanol daun jalloh dengan dosis 100 mg/kg BB. 4). Kelompok perlakuan (K3) adalah mencit yang terinfeksi *P. berghei* yang diberi ekstrak etanol daun jalloh dengan dosis 150 mg/kg BB. Pemberian ekstrak etanol daun jalloh dilakukan setiap hari selama 3 hari.

Prosedur Penelitian

Pembuatan ekstrak etanol daun jalloh

Simplesia dikeringkan selama beberapa hari, lalu digiling sampai menjadi serbuk dan diayak. Serbuk daun jalloh dimaserasi dengan menggunakan larutan etanol 70%. Penambahan larutan maserasi dilakukan berkali-kali sampai terlihat larutan bening. Larutan hasil maserasi disaring menggunakan kapas dan kertas saring, kemudian filtrat yang diperoleh, dikumpulkan dan dikentalkan dengan menggunakan alat penguap berputar (*rotary evaporator*) yang dilengkapi penangas air dan pompa vakum. Selanjutnya ekstrak jalloh yang diperoleh diberikan pada mencit sesuai dengan perlakuan. Pemberian ekstrak dilakukan dengan pelarut CMC 1%.

Inokulasi *Plasmodium berghei* pada mencit

Plasmodium berghei yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. *Plasmodium berghei* diinokulasikan dalam tubuh mencit dengan menyuntikan eritrosit yang mengandung parasit yang telah disuspensikan dalam larutan NaCl fisiologis. Eritrosit yang mengandung parasit ini disuntikkan secara intraperitoneal (ip) sebanyak 0,2 ml terhadap semua mencit pada kelompok perlakuan. Selama inkubasi dilakukan pengamatan parasitemia dengan cara membuat preparat apus dari darah ekor sampai persentase parasitemia mencapai 20% (Tuti *et al.*, 1991).

Penilaian parasitemia

Pengamatan persentase parasitemia dilakukan setiap hari dengan melihat sediaan apus darah mencit yang diwarnai Giemsa. Untuk melihat persentase parasitemia, seluruhnya diperiksa 1000 eritrosit, baik yang mengandung parasit maupun tidak. Perhitungan persentase parasitemia dilakukan dengan menggunakan rumus: $n/m \times 100\%$, dimana n = jumlah eritrosit yang terinfeksi dan m = jumlah eritrosit yang dihitung (1000) (Harijanto, 2000).

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Analisis Varian (ANAVA) pola satu arah dan bila menunjukkan adanya pengaruh perlakuan, maka data selanjutnya diuji dengan *Duncant* (Gaspersz, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan rerata (\pm SD) persentase parasitemia setelah pemberian ekstrak etanol daun jalloh pada dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, 150 mg/kg BB secara oral dapat dilihat pada Tabel 1.

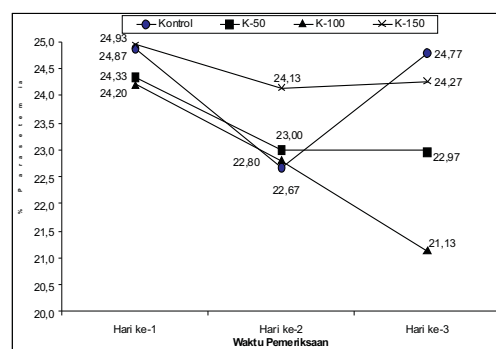
Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak etanol daun jalloh tidak mempengaruhi persentase pertumbuhan *Plasmodium berghei*. Tidak ada pengaruh penghambatan terhadap persentase pertumbuhan *P. berghei* jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol negatif, diduga terkait dengan kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak etanol daun jalloh.

Kemungkinan bahwa kandungan senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak etanol daun jalloh tidak bersifat sebagai penghambat pertumbuhan *P. berghei*. Belum efektifnya bahan bioaktif dalam ekstrak etanol daun jalloh ini kemungkinan juga disebabkan banyaknya senyawa yang terkandung di dalam ekstrak yang digunakan, sehingga efek senyawa bioaktif yang bekerja tidak bersifat sinergis, atau justru sebaliknya hanya bersifat antagonis. Menurut Santos *et al.* (2006) bahwa penarikan (ekstraksi) suatu simplisia herbal dengan menggunakan bahan etanol, umumnya masih sangat banyak senyawa yang terkandung didalamnya, terutama senyawa-senyawa polar. Untuk itu perlu dilakukan uji-uji dalam bentuk fraksi yang lebih spesifik agar efektivitas senyawa bioaktif dapat terlihat. Dugaan lain terhadap tidak adanya pengaruh persentase pertumbuhan *P. berghei* yaitu dalam masa perlakuan selama tiga hari tersebut belum menunjukkan efek penghambatan pertumbuhan *P. berghei*.

Bukti-bukti empiris menunjukkan bahwa masyarakat menggunakan perasan daun jalloh untuk mengobati penderita demam

menggigil karena malaria. Pengobatan ini terlihat hanya bersifat simptomatis yaitu sebagai antipiretik yang bekerja untuk menurunkan suhu tubuh penderita demam menggigil karena malaria. Menurut Chrubasik *et al.* (2001) serta Fabricant dan Fransworth (2001) bahwa tanaman *Salix spp* ini digunakan sebagai bahan obat tradisional untuk penurunan panas (antipiretik).

Pada penelitian ini secara statistik tidak terbukti bahwa penggunaan tanaman jalloh dapat menghambat persentase pertumbuhan *P. berghei*, namun data pada Gambar 1 menunjukkan adanya kecenderungan pemberian ekstrak etanol daun jalloh memiliki efek penghambatan persentase pertumbuhan *P. berghei*. Pada kelompok perlakuan yang diberikan dosis 100 mg/kg BB selama 3 hari terlihat adanya kecenderungan penurunan persentase pertumbuhan *P. berghei*. Kemudian diikuti oleh kelompok perlakuan dengan dosis 50 mg/kg BB dengan kecenderungan penurunan persentase dari hari ke-1 sampai hari ke-2. Pada kelompok perlakuan dengan dosis 150 mg/kg BB, kecenderungan penurunan persentase *P. berghei* terjadi pada hari ke-2. Sedangkan pada hari berikutnya (hari ke-3) persentase pertumbuhan *P. berghei* mengalami kenaikan lagi.



Gambar 1. Grafik persentase parasitemia selama tiga hari

Tabel 1. Rerata (\pm SD) persentase parasitemia yang diberi ekstrak etanol daun jalloh selama tiga hari

| Kelompok Uji Dosis | Persentase Parasitemia | | |
|--------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | Hari I | Hari II | Hari III |
| K0 | 24,87 \pm 1,86 ^a | 22,67 \pm 2,52 ^b | 24,77 \pm 1,66 ^c |
| K1 | 24,33 \pm 1,53 ^a | 23,00 \pm 1,00 ^b | 22,97 \pm 3,76 ^c |
| K2 | 24,20 \pm 1,06 ^a | 22,80 \pm 1,20 ^b | 21,13 \pm 1,90 ^c |
| K3 | 24,93 \pm 1,00 ^a | 24,13 \pm 2,01 ^b | 24,27 \pm 1,42 ^c |

^{a,b,c} Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$).

Beberapa senyawa yang terkandung dalam ekstrak jalloh diketahui memiliki aktivitas sebagai antimalaria seperti flavonoid dan terpenoid. Menurut Syamsudin *et al.* (2007) senyawa golongan flavonoid diketahui dapat bekerja menghambat aktivitas antimalaria. Lebih lanjut Sugito *et al.* (2008) menjelaskan bahwa ekstrak kulit batang jalloh terdapat senyawa terpenoid dan flavonoid. Sampai sejauh ini mekanisme senyawa terpenoid dan flavonoid menghambat pertumbuhan *P. berghei* belum diketahui.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun jalloh tidak berpengaruh terhadap persentase parasitemia pada mencit (*Mus musculus*) yang diinokulasi *Plasmodium berghei*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Pimpinan dan seluruh staf Proyek IMHERE Batch II yang telah mendanai penelitian ini, Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, yang telah memberi kesempatan, kontribusi dan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 1993. **Pemanfaatan Tanaman Obat**. Direktorat Jenderal POM. Jakarta
- Anonimus. 2008. **Manfaat Tanaman Obat**. <http://www.pusatherbal.com>.
- Asmilia, N., Sugito, dan E. Rahmi. 2008. **Kajian Penggunaan Ekstrak Daun Tanaman Jalloh (*Salix Tetrasperma Roxb*) sebagai Antimalaria: Kaitannya dengan Aktivitas Enzim COX dan INOS pada Hati Mencit yang di Infeksi *Plasmodium berghei***. Artikel Research Grant I-MHERE Batch II.
- Chrubasik, S., E. Eisenberg, E. Balan, T. Weinberger, R. Luzzati, and C. Conrath. 2000. Treatment of low back pain exacerbations with willow bark extract: a randomized double-blind study. **Am. J. Med.** 109:9-14.
- Fabricant, D.S. and N.R. Farnsworth. 2001. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. **Environ. Health Perspect.** 109 (suppl 1):69-75.
- Gaspersz, V. 1991. **Metode Perancangan Percobaan**. CV. Armico, Bandung.
- Harijanto, P.N. 2000. **Malaria Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinik & Penanganannya**. EGC, Jakarta.
- Phillips, R.S. 2001. Current status of malaria and potential for control. **Clin. Mikrobiol. Rev.** 14:208-226.
- Robinson, T. 1991. **Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi**. Penerbit ITB, Bandung.
- Santos, K.C.D., S.M.T.F. Kurtz, S.D. Müller, M.W. Biavatti, R.M.M.Wd. Oliveira, and C.Ad.M. Santos. 2006. Sedative and anxiolytic effects of methanolic extract from the leaves of *Passiflora actinia*. **Brazilian Arch. Biol. Technol.** 49(4):565-573.
- Sugito, E. Rahmi, dan R. Sumarni. 2008. Penentuan dosis letal ekstrak n-heksan kulit batang jalloh (*Salix tetrasperma roxb*) dan efeknya terhadap perubahan histopatologi hati dan ginjal mencit. **Seminar hasil-hasil Penelitian Dosen dan Mahasiswa BKS-PTN Barat**. Banda Aceh.
- Schuster, F.L. 2002. Cultivation of *Plasmodium* spp. **Mikrobiol. Rev.** 15:355-364.
- Syamsudin, T. Soesanto, W. Subagus, dan Mustofa. 2007. Aktivitas antiplasmodium dari dua fraksi ekstrak n-heksana kulit batang asam kandis (*Garcinia parvifolia* Miq). **Majalah Farmasi Indonesia**. 18(4):210-215.
- Syafruddin. 2006. Establishment of Malaria Surveillance for An Evidence-Based Malaria Control Program in Tsunami Affected Areas of Indonesia. **Final Report**. Eijkman Institute for Moleculer Biology. Jakarta.
- Tuti, S., R.M. Dewi, Suwarni, dan H.A. Marwoto. 1991. Penelitian imunitas seluler pada mencit Balb/c yang diinfeksi dengan *Plasmodium berghei*. **Laporan Akhir**. Jakarta.